

# LCMS-QTOF 测定降压药喹那普利中 N-亚硝基喹那普利的含量

## LCMS-QTOF-103

**摘要：** 本文使用岛津超高效液相色谱 - 飞行时间质谱仪测定降压药喹那普利中 N-亚硝基喹那普利的含量。在 0.25~100 ng/mL 浓度范围内线性关系良好，相关系数大于 0.999，检出限为 0.055 ng/mL，定量限为 0.18 ng/mL。三个不同浓度 N-亚硝基喹那普利对照溶液分别连续进样 6 针，保留时间 RSD 在 0.055%~0.15% 范围内，峰面积 RSD% 在 1.40%~4.54% 范围内。三个浓度水平的加标回收率为 99.86~103.19%。该方法灵敏度高，重复性好，能够有效的测定降压药喹那普利中 N-亚硝基喹那普利的含量。

**关键词：** 喹那普利 N-亚硝基喹那普利 LCMS-QTOF

### 技术特点：

- ❖ 使用离子累积技术，可提高目标物灵敏度 10 倍以上。
- ❖ 使用 Shim-pack C18-AQ 可以实现 N-亚硝基喹那普利的空间异构体分离。

喹那普利是血管紧张素转化酶（ACE）抑制剂，用于治疗高血压病。2022 年 3 月 21 日，辉瑞主动召回了 3 款常用的降压药，其中包括盐酸喹那普利片剂以及两种授权仿制药，原因为药物中含有 N-亚硝基喹那普利的量高于人体每日可接受摄入量水平。

N-亚硝基喹那普利是属于亚硝胺类杂质，具有致癌性，根据 EMA 发布的法规说明，对尚无充分毒性数据的亚硝胺类化合物，可暂定每日最大摄入量不得超过 18 ng。依据喹那普利最大服用剂量 40 mg 计算，N-亚硝基喹那普利可接受限度为 0.45 ppm。

本文使用岛津超高效液相色谱 - 飞行时间质谱仪建立了测定降压药喹那普利中 N-亚硝基喹那普利含量的方法。可为相关从业人员提供参考。

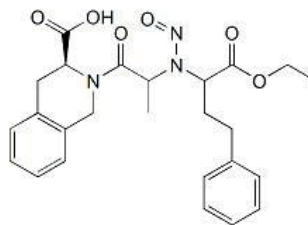


图 1 N-亚硝基喹那普利

## 实验部分

### 1.1 仪器

岛津 LCMS-9050 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪，配置信息如下：

系统控制器：	SCL-40	脱气机：	DGU-405
输液泵：	LC-40D X3×2	柱温箱：	CTO-40C
自动进样器：	SIL-40C X3	质谱仪：	LCMS-9050
色谱工作站：	Labsolutions Ver. 5.118	检测器：	SPD-M40

### 1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack GIST C18-AQ (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9 μm, 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N:227-30807-02)

流动相：A-0.1% 甲酸水；B-0.1% 甲酸乙腈；



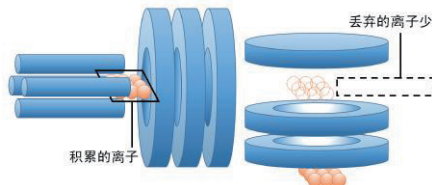


图 2 离子积累过程原理



图 3 离子积累模式的设置方式

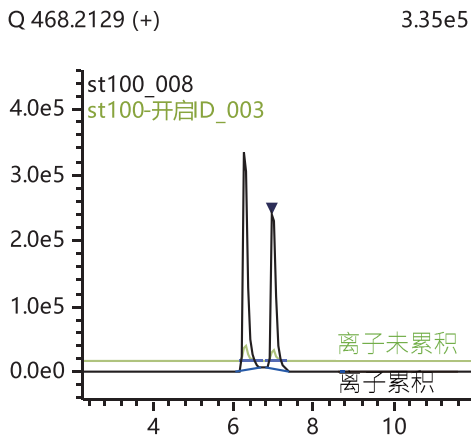


图 4 两种模式对比图

## 2.2 不同采集方式对物质响应影响的比较

岛津 LCMS-9050 有几种常用的分析模式可供选择，分别是 MS 模式、MS/MS 模式、SIM 模式以及 MRM 模式等，主要的分析模式原理如表 3 所示。本实验分别采用 MS 模式、SIM 模式以及 MRM 模式进行采集，考察不同采集模式下，N-亚硝基喹那普利的响应，采集或提取的 m/z 宽度为 15 ppm，响应结果如表 4 所示，通过比较可以看出使用 SIM 模式信噪比 (S/N) 比 MS 模式和 MRM 模式高，这是由于 SIM 模式只关注特定的离子，减少了背景干扰，因而信噪比更好，而 TOF 的质量选择性强，也可以在进行 SIM 采集时在一定程度上减少基质干扰，因此，选择 SIM 模式作为分析模式。

表 3 分析模式原理

分析模式	Q1 透射离子	TOF 获取范围
MS 模式	不依据 m/z	全范围
MS/MS 模式	仅特定 m/z	全范围
SIM 模式	不依据 m/z	仅特定 m/z
MRM 模式	仅特定 m/z	仅特定 m/z

表 4 不同采集模式响应差异

采集模式	化合物名称	峰面积	峰高	S/N
MS 模式	N- 亚硝基喹那普利 1	25282	3450	135.98
	N- 亚硝基喹那普利 2	29896	3989	157.25
SIM 模式	N- 亚硝基喹那普利 1	26331	3616	245.36
	N- 亚硝基喹那普利 2	29134	3783	256.65
MRM 模式	N- 亚硝基喹那普利 1	4443	803	36.30
	N- 亚硝基喹那普利 2	4907	764	34.54

2.3 N- 亚硝基喹那普利标准溶液谱图

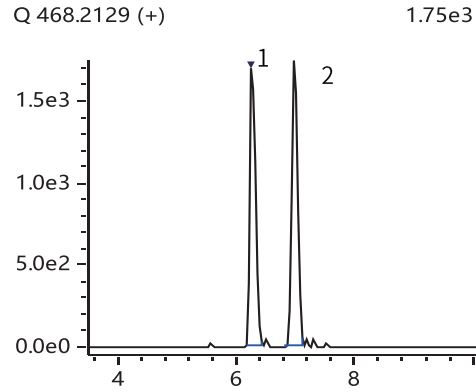


图 5 N- 亚硝基喹那普利标准溶液 MRM 色谱图 (0.5 ng/mL)

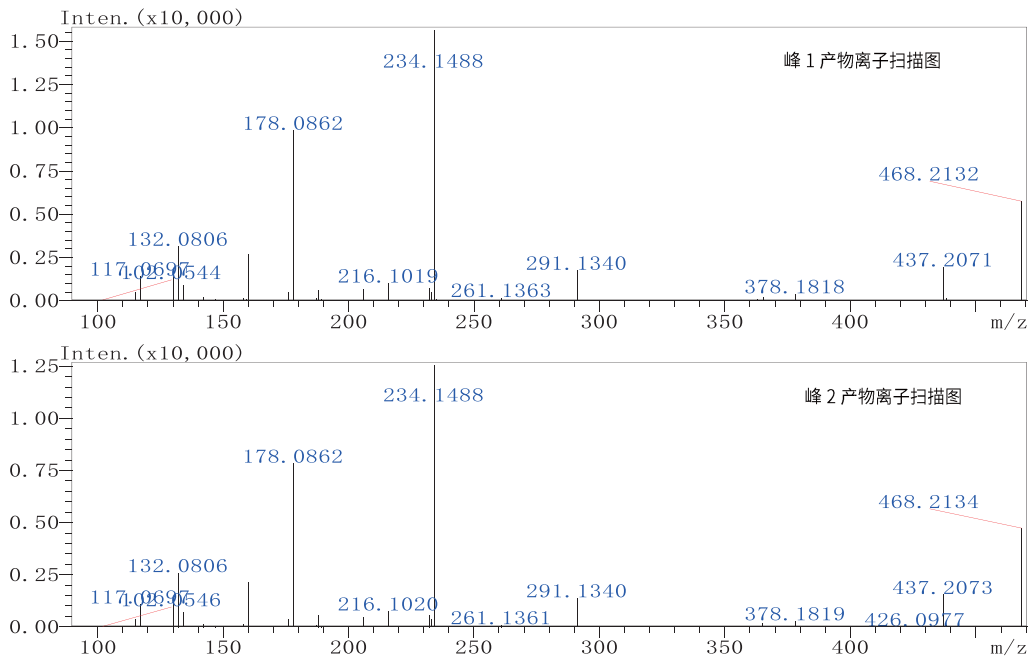


图 6 峰 1 及峰 2 的产物离子扫描图 (100 ng/mL)

对峰 1、峰 2 进行产物离子扫描，发现二者的碎片离子基本一致，如图 5、6 所示，根据 N- 亚硝基喹那普利空间构型，因此，推断峰 1 和峰 2 可能为空间异构体，均为 N- 亚硝基喹那普利。

#### 2.4 校准曲线和检出限

按照 1.3 及 1.4 项下分析条件，标准系列溶液为 0.25 ng/mL、0.50 ng/mL、1.00 ng/mL、2.00 ng/mL、5.00 ng/mL、20.00 ng/mL、100.00 ng/mL，按照浓度从低到高的顺序依次上机测定，以系列标准工作液中 N- 亚硝基喹那普利的浓度为横坐标，以 N- 亚硝基喹那普利两个异构体峰面积之和为纵坐标，绘制校准曲线。N- 亚硝基喹那普利在校准曲线浓度范围内线性关系良好，相关系数  $r$  大于 0.999，各校准点准确度在 87.14%~106.85% 之间。根据 N- 亚硝基喹那普利最低浓度点标样数据，以 3 倍信噪比计算检出限，检出限及线性相关系数如表 5 所示。

表 5 N- 亚硝基喹那普利的校准曲线及检出限

化合物	校准曲线	相关系数 R	准确度 %	检测限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
N- 亚硝基喹那普利	$Y = (45687.8)X - 246.89$	0.9999	87.14%~106.85%	0.055	0.18

#### 2.5 重复性实验

取校准曲线低中高，三个不同浓度点对照溶液，连续进样 6 次，考察仪器的精密度，保留时间 RSD 在 0.055%~0.15% 范围内，峰面积 RSD% 在 1.40%~4.54% 范围内。具体结果见表 6，仪器精密度良好。

表 6 精密度结果 (n=6)

化合物名称	0.50 $\mu\text{g/mL}$		2 $\mu\text{g/mL}$		20 $\mu\text{g/mL}$	
	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)
N- 亚硝基喹那普利 1	0.14	4.54	0.064	2.51	0.059	1.54
N- 亚硝基喹那普利 2	0.16	3.55	0.055	2.56	0.055	1.40

#### 2.6 实际样品测定及准确度测定

按照以上建立的方法对喹那普利原料药进行测定，该样品中 N- 亚硝基喹那普利的含量为 1.49 mg/kg。其色谱图如图 7 所示。

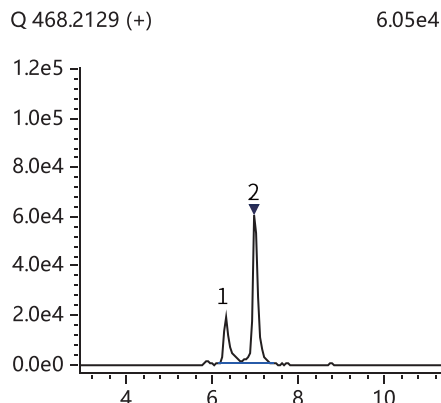


图 7 样品中 N- 亚硝基喹那普利 MRM 色谱图

根据喹那普利原料药中 N- 亚硝基喹那普利的含量，分别向喹那普利加入含量为 1.2 mg/kg、1.5 mg/kg、2.0 mg/mL 的标准品，按照 1.4 进行前处理，测定不同水平样品的加标回收率在 99.86~103.19% 范围内，RSD 结果如表 7 所示。

表7 不同浓度水平 N- 亚硝基喹那普利添加回收率结果 (n=3)

样品含量 mg/kg	加标后含量 mg/kg	加标量 mg/kg	回收率 %	RSD%
1.49	2.715	1.2	102.02	3.43
	3.038	1.5	103.19	2.73
	3.487	2.0	99.86	2.33

## ■ 结论

本文使用岛津超高效液相色谱 - 飞行时间质谱仪建立了测定喹那普利中 N- 亚硝基喹那普利的的方法。结果显示：对 N- 亚硝基喹那普利对照品溶液进行重复性测试，三个不同浓度 N- 亚硝基喹那普利的保留时间 RSD 在 0.055%~0.15% 范围内，峰面积 RSD% 在 1.40%~4.54% 范围内；以组校准方式进行外标法定量，其结果显示校准曲线相关系数大于 0.999。使用喹那普利原料药作为加标基质，考察三个不同浓度水平加标回收以及 RSD，结果显示，三个不同水平的加标回收率在 99.86~103.19% 之间，实验结果表明，该方法前处理简单，专属性强，能够满足 N- 亚硝基喹那普利的含量测定需要，可为相关从业人员提供参考。